Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 37, No. 2, Summer 2023, p. 325-336

Effect of Some Inorganic and Organic Fertilizers’ Application and Drought Stress on Superoxide Dismutase and Peroxidase Activities and Total Soluble Protein of Bidane-Ghermez Grapevines

A. Fatemi[1*]- A. Safari[2]- M. Saiedi[3]- Z. Kolahchi[4]

Received: 28-10-2021
Revised: 27-12-2022
Accepted: 01-01-2023
Available Online: 01-01-2023

How to cite this article:
Fatemi, A., Safari, A., Saiedi, M., & Kolahchi, Z. (2023). Effect of some inorganic and organic fertilizers application and drought stress on superoxide dismutase and peroxidase activities and total soluble protein of Bidane-Ghermez grapevines. *Journal of Horticultural Science, 37*(2), 325-336. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.73313.1102

Introduction

Drought is the most important limiting factor for the yield and quality of products in the world. Fertilizer application can mitigate drought stress in plants. Most farmers prefer to use inorganic (chemical) fertilizers because of their fast impact on plant growth. The reasonable cost of inorganic fertilizers and their availability are the other reasons. However, the long-term effects of organic fertilizers on plant growth and soil fertility has been proved. The grapevines are one of the most important garden products in the world as well as in Iran. It has been reported that the application of biochar has significant effects on soil fertility as well as plant growth. Biochars have properties such as highly porous structure, high specific surface area, higher water holding capacity of the soil, the long-term stability in the soil. In addition, our previous study indicated that it could decrease the hazard of sodium in soil compared with compost. In Iran, the cultivation area of grapevines was the second grade after the pistachio cultivation area in 2019. According to statistical data on agriculture in 2019, the cultivation area of irrigated and rain-fed grapevines in Kermanshah province was 7710 and 1515 ha, respectively. According to this report, the production of irrigated and rain-fed grapevines in Kermanshah province in 2019 was 82718 and 1763 tons, respectively. The effect of application of some inorganic and organic fertilizers under drought stress on yield, water use efficiency, and some biochemical characteristics of the grapevine leaves cultivar Bidane-Ghermez has been previously studied. In this research, the effect of drought stress and the application of potassium sulfate, compost, and biochar on antioxidant activities of the grapevine leaves cultivar Bidane-Ghermez was investigated.

Materials and Methods

A greenhouse study with a factorial experiment based on a block of randomized completely design was conducted with fertilizer treatments including control, potassium sulfate (1250 mg kg^{-1}), compost (5% w/w), and biochar (10% w/w) without and with drought stress conditions (80 and 40% FC, respectively) during 2017-2018. For this research, the biochar was produced from apple tree pruning under low oxygen conditions by slow pyrolysis at 400 °C. The compost was purchased from the municipal compost factory of Kermanshah province. To evaluate drought stress and inorganic and organic fertilizers' application on antioxidant enzymes activities, the superoxide dismutase and peroxidase activities and total soluble protein of grapevine leaves were determined. The data were analyzed by ANOVA and the mean of studied characteristics was compared by Duncan’s test at 5% probability level using SAS software.

1 and 2- Assistant Professor and Graduated M.Sc. Student, Department of Soil Science, Razi University, Kermanshah, respectively.
(*- Corresponding Author Email: a.fatemi@razi.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Agronomy, Razi University, Kermanshah
4- Assistant Professor, Department of Soil Science, Bu Ali Sina University, Hamadan
DOI: 10.22067/jhs.2023.73313.1102

Results and Discussion

the results indicated that the interaction effect of fertilizers treatments and drought stress on the superoxide dismutase and peroxidase activities as well as total soluble protein was significant (*P*<0.01). Under drought stress conditions, among fertilizers' treatments, the activity of superoxide dismutase for potassium sulfate was significantly lower than compost and biochar treatments (*P*<0.01). The results also showed that the peroxidase activity for compost was significantly higher than potassium sulfate and biochar treatments (*P*<0.01). Besides, the highest total soluble protein amount was found for biochar treatment (*P*<0.01).

Conclusion

according to the results of this study, it can be concluded that the increase of total soluble protein of grapevine leaves under drought stress conditions by biochar application contributed to the increase of superoxide dismutase and peroxidase activities also increasing the bioavailability of macro-and micronutrients. Biochar application increased significantly the potassium concentration of the leaves of the grapevines. Potassium regulates water movement at the plant and also provides a higher relative water content of grapevine leaves. Moreover, potassium decreases the non-stomatal effects are also attributed to stomatal closure during drought stress conditions. Furthermore, potassium contributes to protein synthesis. Biochar application also increased the phosphorus, copper, and magnesium of the leaves of the grapevine. Higher concentration of phosphorus under drought stress conditions caused the grapevine leaves to suffer less from phosphorus deficiency. Copper exists in superoxide dismutase and is considered a key player in superoxide detoxification. Under drought stress conditions, higher manganese concentration by biochar application resulted in more protection of the cellular membrane against Reactive Oxygen Species (ROS). For fertilizer recommendation in order to reduce drought stress effects on some antioxidant enzymes activities of Bidane-Ghermez grapevine leaves, the application of biochar is recommended first then potassium sulfate and compost.

Keywords: Biochar, Compost, Macronutrients, Micronutrients, Potassium sulfate

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۷، شماره ۲، تابستان ۱٤۰۲، ص. ۳۳٦-۳۲٥

تأثیر کاربرد برخی کودهای شیمیایی و آلی و تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، پراکسیداز و پروتئین محلول کل در انگور رقم 'بیدانه قرمز'

اکرم فاطمی[1*] - آسیه صفری[2] - محسن سعیدی[3] - زهرا کلاه چی[4]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۱

چکیده

تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده عملکرد و کیفیت گیاهان است. در این پژوهش تأثیر تنش خشکی و کاربرد برخی کودهای شیمیایی و آلی بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی برگ انگور 'بیدانه قرمز' در گلخانه بررسی شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با تیمارهای کودی: شاهد، سولفات پتاسیم (۱۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، کمپوست (پنج درصد وزنی) و بایوچار (ده درصد وزنی) در شرایط بدون تنش و تنش خشکی (به ترتیب ۴۰ و ۸۰ درصد رطوبت ظرفیت زراعی) در چهار تکرار انجام شد. فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز و مقدار پروتئین محلول کل برگ انگور اندازه‌گیری شدند. یافته‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی و تیمار کودی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز و مقدار پروتئین محلول کل برگ انگور معنی‌دار بود ($P<0.01$). در شرایط تنش خشکی، بین تیمارهای کودی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمار سولفات پتاسیم به طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای کمپوست (۱۹/۲ درصد) و بایوچار (۲۱/۱ درصد) بود ($P<0.01$). در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار کمپوست به طور معنی‌داری ($P<0.01$) بیشتر از تیمار سولفات پتاسیم (۵۰ درصد) بود و با تیمار بایوچار اختلاف معنی‌داری نداشت. بیشترین پروتئین محلول کل در تیمار بایوچار نسبت به شاهد (با افزایش دو برابری) دیده شد. افزایش پروتئین محلول کل برگ انگور با کاربرد بایوچار در شرایط تنش خشکی به افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز و قابلیت جذب عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف نسبت داده شد. بنابراین به منظور توصیه کودی در شرایط مشابه از نظر نوع خاک، سن و رقم انگور و نوع بایوچار، کاربرد بایوچار سپس کمپوست و در پایان سولفات پتاسیم پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: بایوچار، سولفات پتاسیم، عناصر پر مصرف، عناصر کم مصرف، کمپوست

مقدمه

انگور با نام علمی *Vitis vinifera* یکی از قدیمی‌ترین گیاهان اهلی است که آثار آن به صورت فسیل از دوران سوم زمین‌شناسی باقی‌مانده است. در ایران بیش از ۸۰۰ ژنوتیپ انگور بومی شناسایی شده است که عمدتاً متعلق به گروه آسیایی- اروپایی *V. viniferae* می‌باشند (Joseph *et al.*, 2013). از مهم‌ترین محدودیت‌های تولید در مناطق خشک و نیمه خشک تنش خشکی است. کمبود آب باعث کاهش محتوای نسبی آب در بافت‌های گیاهان (Safari *et al.*, 2022;2021 Sorori *et al.*,) و محدودیت رشد در آن‌ها می‌شود. تنش خشکی علاوه بر تأثیر بر فتوسنتز (Gambetta *et al.*, 2020)، ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش محتوای پروتئین در تنش خشکی با افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه
(*- نویسنده مسئول: Email: a.fatemi@razi.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه ژنتیک و اصلاح نباتات،دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه
۴- استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

DOI: 10.22067/jhs.2023.73313.1102

کننده پروتئین همراه است (Haider *et al.*, 2015). تنش خشکی سبب ایجاد اختلالات متابولیسمی در سلول‌های گیاهی می‌گردد که از جمله می‌توان به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن[1] به عنوان یکی از فاکتورهای اصلی اختلالات متابولیسمی سلول اشاره کرد (Blokhina *et al.*, 2003) که موجب کاهش اسیدهای نوکلئیک، پروتئین و چربی‌های غشایی می‌شود (Pan *et al.*, 2006). سلول‌های گیاهی برای مقابله با این خسارت به وسیله‌ی افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند پراکسیداز، سوپراکسیداز و کاتالاز به تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن می‌پردازند (Amini *et al.*, 2009, Abedi and Pakniyat, 2010, Ramzani *et al.*, 2017). سوپر اکسید دسموتازها در همه اندام‌ها وجود داشته و نقش اساسی آنها زنده نگهداشتن اندامها در شرایط هوازی و حضور اکسیژن فعال می باشد. این آنزیمها بافتها را از تأثیر مخرب رادیکالهای آزاد اکسیژن (O^{-}_2) محافظت می‌کند (Liu *et al.*, 2012). طلایی و همکاران (Talaei *et al.*, 2011) گزارش کردند که فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ انگور دو رقم ساهانی و بیدانه سفید که تحت تأثیر تیمارهای تنش خشکی قرار داشتند، با افزایش تنش خشکی فعالیت آن افزایش یافت.

مدیریت تغذیه گیاه در شرایط تنش خشکی یکی از مسائل مهم در تولید محصولات گیاهی محسوب می‌شود. بدون شک گیاهی که تغذیه مناسب داشته باشد، مقاومت بالاتری در برابر شرایط نامساعد محیطی خواهد داشت. در واقع بسته به میزان فراهمی آب، اضافه کردن عناصر غذایی می‌تواند باعث افزایش و یا کاهش مقاومت به تنش خشکی گردد و یا حتی بی‌تأثیر باشد (Malusà *et al.*, 2002). کشاورزان برای بهره‌برداری بیشتر از اراضی و حفظ حاصلخیزی خاک به ناچار از کودهای شیمیایی استفاده می‌کنند. این کودها از عوامل اصلی حفظ حاصلخیزی خاک و منبع مهمی از عناصر غذایی مورد نیاز گیاه محسوب می‌شوند. استفاده از کودهای آلی و شیمیایی به عنوان بهبود دهنده ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک می‌تواند یکی از راهکارهای کاهش اثر نامطلوب تنش خشکی باشد (Usmani *et al.*, 2020). منابع موادآلی تنوع زیادی دارد و شامل بقایای گیاهی حاصل از فعالیت‌های زراعی، کودهای دامی و مرغی، گیاهان پوششی، مواد حاصل از زباله‌های شهری، کمپوست، بایوچار و سایر موارد مشابه می باشد. کمپوست به خاطر ویژگی‌های منحصر به فرد به عنوان ماده آلی اصلاحی برای افزایش پایداری، سلامت و بهره‌وری خاک اهمیت دارد (Xin *et al.*, 2016). کاربرد بایوچار در خاک‌های کشاورزی راه-کار سودمندی برای بهبود و افزایش باروری خاک و دستیابی به امنیت غذایی کامل است (Biederman and Harpole, 2013). کاربرد بایوچار می‌تواند یک استراتژی مؤثر برای مدیریت باغ‌های انگور در مناطق مستعد به خشکسالی به عنوان جایگزین آبیاری تکمیلی باشد.

1- Reactive Oxygen Species

گزارش شده است که کاربرد بایوچار در شرایط مزرعه‌ای محتوای آب خاک و آب قابل‌دسترس برای انگور را افزایش داد و در سال‌های با بارندگی کم تأثیر بایوچار بیشتر بود (Hammerschmidt *et al.*, Cramer *et al.*, 2013;1982). در مدیریت آلی، کود نیتروژنی کمتری به کار می‌رود و به همین دلیل ادعا می‌شود که مدیریت آلی کیفیت انگور را افزایش می‌دهد. کاربرد زیاد نیتروژن سبب کاهش غلظت آنتوسیانین و پتانسیل آنتی اکسیدانی انگور می‌شود. نتایج پژوهش ملوسا و همکاران (Malusà *et al.*, 2002) نشان داد که بیشترین غلظت پلی فنل ها و در نتیجه بیشترین حفاظت در برابر آنتی اکسیدانها در انگور در تیمارهای ترکیبات آلی دیده شد. رمضانی و همکاران (Ramzani *et al.*, 2017) گزارش کردند که گونه‌های فعال اکسیژن در برگ‌های تازه کینوا[2] با کاربرد کمپوست و بایوچار در مقایسه با شاهد کاهش یافت. این کاهش برای تیمار بایوچار بیشتر از کمپوست بود. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در تیمارهای کمپوست و بایوچار بیشتر از تیمار شاهد بود. افزایش فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در تیمار بایوچار بیشتر از کمپوست گزارش شد. سروری و همکاران (Sorori *et al.*, 2022) اثر قطع آبیاری بر ویژگی‌های بیوشیمیایی ۱۸ رقم انگور را در شرایط گلخانه‌ای بررسی کردند. نتایج نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز و کاهش غلظت محتوای نسبی آب برگ، غلظت نسبی کلروفیل، کلروفیل *a* ، کلروفیل *b* و کارتنوئید گردید.

با توجه به مرور منابع که در بالا بیان شد، هدف از این پژوهش بررسی اثر کاربرد کمپوست، بایوچار و سولفات پتاسیم در شرایط تنش خشکی بر فعالیت آنزیم های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز و مقدار پروتئین محلول کل برگ انگور 'بیدانه قرمز' در شرایط گلخانه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش گلخانه‌ای: پس از زمستان گذرانی نهال‌ها در سال ۱۳۹۵، در اواسط بهمن ماه نهال‌های دو ساله به گلدان انتقال داده شدند. شاخه‌های اضافی هرس شده و تنها چهار جوانه شامل سه جوانه رویشی و یک جوانه پایه بر روی نهال باقی ماندند. نهال‌ها تا اواسط خرداد ماه ۱۳۹۶در شرایط بهینه از نظر رطوبت، فراهمی عناصر غذایی و مبارزه با آفات نگهداری شدند. برای این منظور، آبیاری به صورت کامل انجام شد. در فواصل زمانی ۲۰ روز یک بار برای رفع کنه تارتن و تریپس حشره‌کش ایمیدوکلروپراید[3] به مقدار یک در هزار اضافه شد. همچنین برای رفع سفیدک قارچی از سم هگزاکونازول[4] به مقدار ۲ میلی لیتر در پنج لیتر آب مقطر استفاده شد. سم آبامکتین[5] به

2- Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)
3- Imidia SC35%
4- Hexaconazole
5- Abamectin

مقدار یک در هزار برای دفع شته بـه کـار رفـت. اواسـط خـرداد مـاه ۱۳۹۶، آزمایش گلخانه‌ای انجام شد. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار بر نهال‌های دو ساله انگور رقم 'بیدانه قرمز' انجام شد. گلدان‌هـای ده کیلـوگرمی بـا هشت کیلوگرم خاک سطحی (تا عمق ۳۰ سـانتی‌متـری) بـاغ پسـته پردیس کشاورزی دانشگاه رازی پـر شـدند. ویژگـی‌هـای فیزیکـی و شیمیایی آن شامل بافت بـه روش هیـدرومتر، pH و قابلیـت هـدایت الکتریکی در نسبت خاک به آب ۱:۲/۵، ظرفیـت تبـادل کـاتیونی بـه روش استات سدیم با pH=۸/۲، کربنات کلسیم، کربن آلی، فسفر قابل جذب به روش اولسن، کلسیم و منیزیم قابل جذب عصاره گیری شده با استات آمونیوم ۱ نرمال و خنثی به روش تیتراسیون، پتاسیم و سدیم قابل جذب عصاره گیری شده بـا اسـتات آمونیـوم ۱ نرمـال و خنثـی، نیتروژن کل با روش کجلدال و عناصر کم مصرف شامل آهـن، روی، مس و منگنز با DTPA عصاره‌گیری و غلظت آنها با دسـتگاه جـذب اتمی اندازه‌گیری شد (Sparks *et al.*, 2020). بافت خاک لـومرسـی سیلتی، با واکنش خنثی و بـدون شـوری (قابلیـت هـدایت الکتریکـی ۰/۶۰ دسی‌زیمنس بر متر) بود. درصد کربن آلی و درصد نیتروژن کـل خاک همچنین غلظت برخی عناصر غـذایی خـاک در جـدول ۱ آمـده است.

تیمارهای کودی شامل شاهد (عدم مصرف کود)، سولفات پتاسیم (۱۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلـوگرم خـاک گلـدان) بـه عنـوان تیمـار کـود شیمیایی، کاربرد پنج درصد وزنی کود کمپوست زباله شـهری (معـادل ۴۰۰ گرم در گلدان) و ده درصد وزنی بایوچار (۸۰۰ گرم در گلدان) بـه عنوان کودهای آلی بود. کمپوست زباله شهری از کارخانـه کمپوسـت سازی کرمانشاه خریداری شده و بایوچار از سرشاخه‌های درخت سیب در شرایط با اکسیژن کم در کوره فلزی با دمای ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد تولید شد. ویژگی‌های شیمیایی کمپوست و بایوچار به کار رفته در این پژوهش با روش‌های معمـول (Davoudi, 2015) انـدازه‌گیـری و در جدول ۲ گزارش شده است.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1- Some physicochemical characteristics of studied soil

*pH (1:2.5)	EC** (1:2.5)	کربنات کلسیم معادل Equivalent calcium carbonate	کربن آلی OC	نیتروژن N	ظرفیت تبادل کاتیونی CEC	فسفر قابل جذب Available P	پتاسیم قابل جذب Available K	کلسیم قابل جذب Available Ca	منیزیم قابل جذب Available Mg	آهن قابل جذب Available Fe	روی قابل جذب Available Zn	مس قابل جذب Available Cu	منگنز قابل جذب Available Mn
	($dS.\ m^{-1}$)	**(%)**			**($meq.100\ g^{-1}$)**	**($mg.kg^{-1}$)**							
7.20	0.60	5.95	0.93	0.09	30.86	1.44	400.00	376.00	88.80	4.76	1.70	1.45	35.24

* و ** نسبت خاک به آب در عصاره

جدول ۲- ویژگی‌های شیمیایی کودهای آلی (کمپوست و بایوچار) مورد استفاده در آزمایش

Table 2- Chemical characteristics of compost and biochar used in the experiment

نوع کودآلی Type of organic fertilizer	$pH_{(1:10)}$	$EC_{(1:10)}$	کربن آلی (OC)	N	P	K	Fe	Zn	Cu	Mn
		($dS.m^{-1}$)	**(%)**				**($mg.kg^{-1}$)**			
کمپوست زباله شهری (Municipal solid waste compost) MSWC	7.96	3.90	14.20	1.46	0.57	1.41	10735	327	275	290
بایوچار Biochar	8.44	3.40	30.00	0.28	0.53	0.53	1325	67.50	42	95

در ابتدای تیر ماه ۱۳۹۶ بر اساس رطوبت ظرفیـت زراعـی خـاک (۴۰ درصد) تیمارهای تنش خشکی اعمال شد کـه بـه مـدت دو مـاه ادامه داشت. برای ایـن منظـور دو سـطح آبیـاری نرمـال (۸۰ درصـد ظرفیت زراعی یا FC) و تـنش خشـکی (۴۰ درصـد FC) بـر اسـاس رطوبت وزنی گلدان در نظر گرفته شد. رطوبت وزنـی خـاک در طـول دوره آزمایش با توزین روزانه در رطوبت‌هـای مـورد نظـر ثابـت نگـه داشته شد. نمونه‌برداری برگ از جوان‌ترین بـرگ‌هـای کـاملاً توسـعه یافته صورت گرفت. نمونه‌های برگی بلافاصله به نیتروژن مایع انتقال یافت و برای اندازه‌گیری‌های ویژگی‌های بیوشیمیایی تا زمـان انجـام آزمایش‌ها در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز: فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز با اندازه‌گیری سرعت احیاء نیترو بلـو تترازولیـوم (NBT)[1] در

1- Nitro Blue Tetrazolium

طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین (بر حسب میلی‌گرم) موجود در عصاره بیان شد. یک واحد آنزیم به عنوان مقدار آنزیمی در نظر گرفته شد که از احیاء ۵۰ درصد NBT در شرایط ارزیابی جلوگیری می‌کند (Beers and Sizer, 1952).

فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز با اندازه‌گیری میزان جذب گایاکول[1] تشکیل شده در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در طول موج ۴۷۰ نانومتر تعیین شد. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین با استفاده از ضریب خاموشی $mM^{-1}.cm^{-1}$ ۲/۸ محاسبه شد (Haider *et al.*, 2015).

تعیین پروتئین محلول کل: غلظت پروتئین محلول کل با اندازه‌گیری جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر و با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد (Candan and Tarhan, 2003).

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌ها با نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل و میانگین داده‌ها نیز به روش آزمون دانکن و در سطح احتمال پنج درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثرات متقابل تنش خشکی و تیمارهای کودی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تیمار تنش خشکی و تیمارهای کودی بر آنزیم سوپراکسید دسموتاز برگ انگور معنی‌دار ($P<0.05$) بود (جدول ۳). در شرایط بدون تنش خشکی، بیشترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز برای تیمار شاهد و کمترین مقدار برای تیمارهای کمپوست و بایوچار به‌دست آمد. در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمارهای کودی به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد به دست آمد. در بین تیمارهای کودی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمار سولفات پتاسیم به طور معنی‌داری کمتر از تیمارهای کمپوست و بایوچار بود (شکل ۱). فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمار سولفات پتاسیم در شرایط بدون تنش خشکی و تنش خشکی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۱).

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی و تیمارهای کودی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ انگور ($P<0.01$) معنی‌دار بود (جدول ۳). در شرایط بدون تنش خشکی، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار شاهد و کمترین مقدار در تیمار سولفات پتاسیم مشاهده شد. در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای کودی به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود. در بین تیمارهای کودی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای سولفات پتاسیم و بایوچار با هم اختلاف معنی‌داری نداشت. فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار کمپوست به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای سولفات پتاسیم و بایوچار بود (شکل ۲). فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای سولفات پتاسیم و بایوچار در شرایط تنش خشکی با فعالیت این آنزیم در تیمار سولفات پتاسیم در شرایط بدون تنش خشکی اختلاف معنی‌داری نداشت. کودهای آلی با کلات کردن عناصر ضروری سبب افزایش جذب عناصر غذایی گیاه می‌شوند و کاربرد آنها بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و در نتیجه مقدار پروتئین محلول گیاه اثرگذار است (Joseph *et al.*, 2013). لیو و همکاران (Liu *et al.*, 2012) گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی با کاربرد بایوچار فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز گیاه نسبت به شاهد افزایش یافت. محمدی ترکاشوند و همکاران (Mohammadi Torkashvand *et al.*, 2018) در بررسی اثر تنش خشکی و غلظت‌های پتاسیم در محلول غذایی گزارش کردند که فعالیت پراکسیداز در برگ‌های سوسن در محلول غذایی با ۱۲ میلی‌مولار پتاسیم به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط بدون پتاسیم کمتر بود. عثمانی و همکاران (Usmani *et al.*, 2020) گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی با کاربرد سولفات پتاسیم فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز برگ ذرت افزایش یافت. صیدی و همکاران (Siedi *et al.*, 2022) در آزمایشی گلخانه‌ای اثر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی پنج رقم انگور روسی و دو رقم ایرانی (چفته و بیدانه سفید) را بررسی کردند. نتایج نشان داد کاهش میزان آب آبیاری نسبت به شاهد، باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنتی اکسیدانی آسکوربیک پراکسیداز، پراکسیداز هیدروژن، پراکسیداز، پرولین، قند محلول و گایاکول پراکسیداز گردید.

اثر متقابل تنش خشکی و تیمارهای کودی بر پروتئین محلول کل برگ انگور

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تنش خشکی و تیمارهای کودی بر پروتئین محلول کل برگ انگور معنی‌دار بود ($P<0.01$) (جدول ۳). در شرایط بدون تنش خشکی بیشترین مقدار پروتئین محلول کل (۰/۶۲ میلی‌گرم برگرم) در تیمار کمپوست دیده شد. مقدار پروتئین محلول کل برگ در تیمار بایوچار ۰/۵۸ میلی‌گرم برگرم به دست آمد. مقدار پروتئین محلول کل برگ در تیمارهای آلی به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار سولفات پتاسیم بود. در شرایط تنش خشکی کمترین مقدار پروتئین محلول کل (۰/۱۱ میلی‌گرم برگرم) در تیمار شاهد به‌دست آمد.

1- Guaiacol

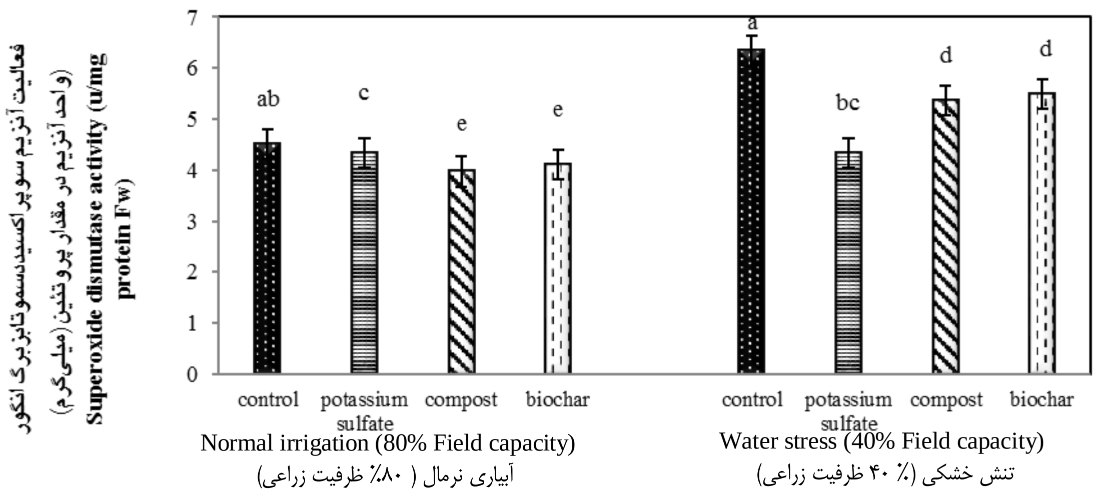
جدول ۳- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) پروتئین محلول کل، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز در برگ انگور رقم' بیدانه قرمز' در تیمارهای کودی مختلف در شرایط تنش خشکی

Table 3- ANOVA (mean squares) of total soluble protein, superoxide dismutase and peroxidase activities of grapevine leaves cv. 'Bidane Ghermez' in different fertilizer treatments under drought stress conditions

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	پروتئین محلول کل Total soluble protein	سوپراکسید دسموتاز Superoxide dismutase activity	پراکسیداز Peroxidase activity
بلوک (Block)	3	0.00	9.93^{ns}	12.38**
تنش خشکی (Drought stress)	1	0.33**	3927.10**	507.75**
کود (Fertilizer)	3	0.14**	7824.33**	397.94**
تنش خشکی ×کود (Drought stress fertilizer)	3	0.03**	395.53*	85.15**
خطا (Error)	21	0.00	91.84	5.61
ضریب تغییرات (CV)		7.36	10.66	10.91

*و ** و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد و عدم معنی‌داری

*,** and ^{ns} : significant at 5%1% and of probability levels, and Non-significant, respectively.

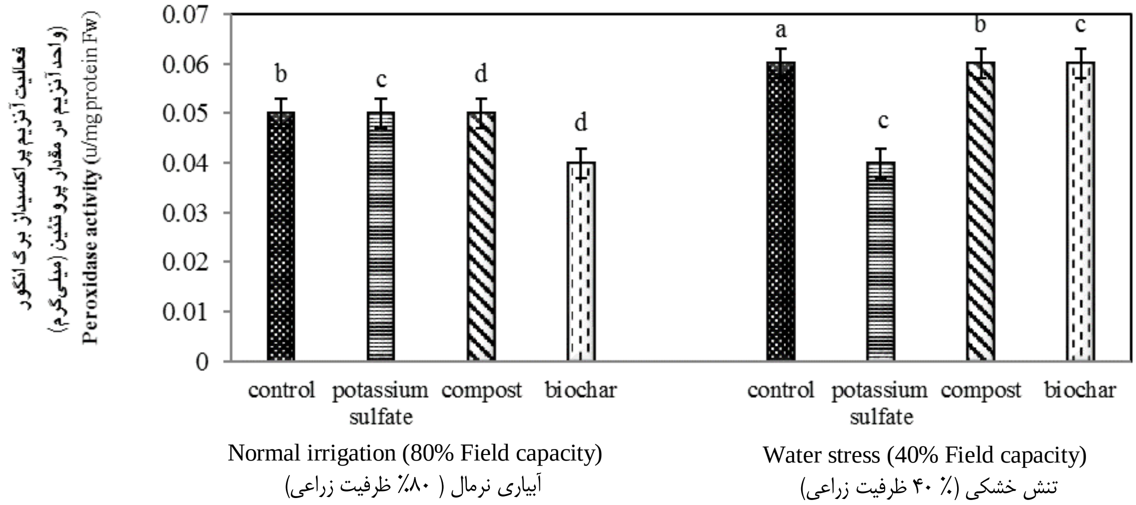


شکل ۱- اثر متقابل تنش خشکی × تیمار کودی بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز'

Figure 1- Interaction effect of drought stress× fertilizer treatments on superoxide dismutase activity of grapevine cv. 'Bidane Ghermez' leaves (DMRT, *p≤0.05*)

در شرایط تنش خشکی بیشترین مقدار پروتئین محلول کل (۰/۳۳ میلی‌گرم برگرم) در تیمار بایوچار دیده شد. مقدار پروتئین محلول کل برگ در تیمارهای کمپوست و سولفات پتاسیم اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۳). در پژوهش های قبل، کاهش مقدار پروتئین در شرایط تنش خشکی را با افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین مانند پروتئازها مربوط می‌دانستند (Siosemardeh et al., 2014 ,Conesa et al., 2016). رددی و همکاران (Reddy et al., 2004) با مرور یافته‌های پیشین بیان کردند که در شرایط تنش، برخی اثرات غیر روزنه‌ای همچون فسفریلاسیون نوری، بازسازی ریبولوز بی فسفات، فعالیت روبیسکو و ساخت ATP به بسته شدن روزنه‌ها مربوط می‌باشند. سی و سه مرده و همکاران (Siosemardeh et al., 2003) گزارش کردند که تنش خشکی باعث کاهش هدایت مزوفیلی، فتوسنتز، محتوای پروتئین و مقدار کلروفیل برگ گندم شد. مطالعه کرامر و همکاران (Cramer et al., 2013) بر سر شاخه های انگور در معرض تنش خشکی نشان داد که تنش خشکی در بسیاری از پروتئین های تاثیر گذار در سوخت و ساز، انرژی (فتوسنتز، گلیکولیز و تنفس)، دفاع آنتی اکسیدانی و سرنوشت پروتئین (ساخت پروتئین، تاخوردگی و تغییر) نقش دارند. آنها همچنین گزارش کردند که در واکنش به تنش، تغییرات اولیه در فراوانی پروتئین به دلایل کاهش فتوسنتز، انتقال کربن، رشد و سوخت ساز کربن اتفاق می افتد

که ممکن است متأثر از فسفریلاسیون باشد. همچنین مشخص شده است که تنظیم بسیاری از دیگر پروتئین‌ها با گونه‌های فعال اکسیژن و سیگنال فردوکسین-تیوردوکسین می باشد (Cramer *et al*., 2013).

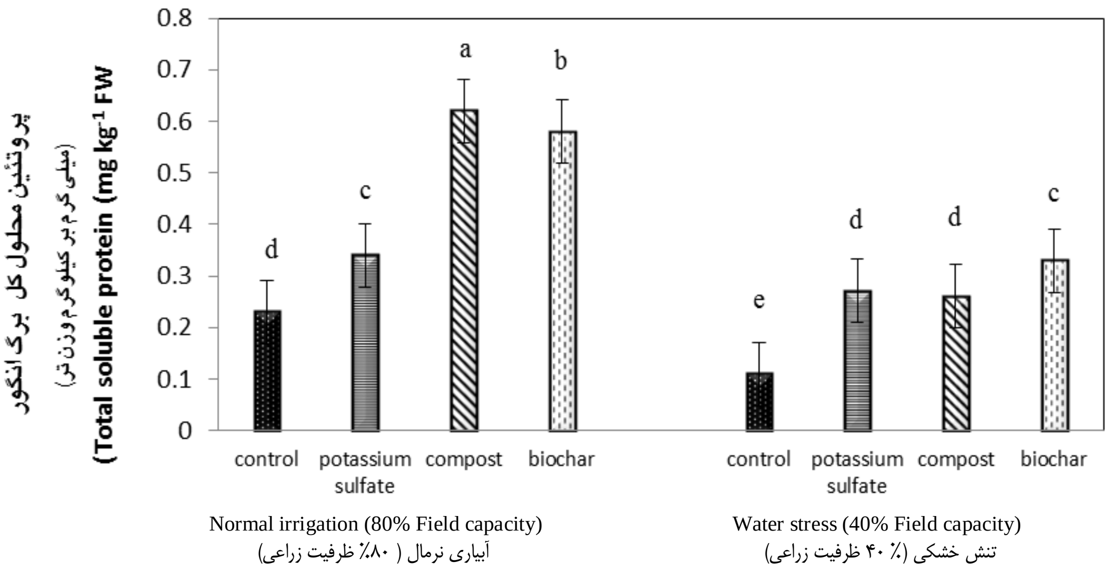


شکل ۲- اثرات متقابل تنش خشکی ×تیمار کودی بر فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ انگور رقم ’بیدانه قرمز‘.

Figure 2- Interaction effect of drought stress× fertilizer treatments on peroxidase activity of grapevine cv. ‘Bidane Ghermez’ leaves (DMRT, *p≤0.05*)

اما در اینجا به نظر می‌رسد که مقدار پروتئین های محلول کل برگ انگور تنها متأثر از فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز در اثر تنش خشکی نمی‌باشد. چرا که در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز در تیمارهای آلی با هم اختلاف معنی‌دار نداشت و کمتر از تیمار سولفات پتاسیم بود (شکل ۱). همچنین در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای بایوچار و سولفات پتاسیم با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند و میزان آنها از تیمار کمپوست زباله شهری کمتر بود (شکل ۲). مقدار پروتئین محلول کل برگ در تیمار بایوچار به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای کمپوست زباله شهری و سولفات پتاسیم (P>0.05) به‌دست آمد. حیدر و همکاران (Haider *et al*., 2015) گزارش کردند که کاربرد بایوچار در شرایط تنش خشکی باعث افزایش تراکم روزنه‌ها، محتوای کلروفیل، فتوسنتز و بهبود سنتز پروتئین گیاه می‌شود. بنابر این یافته‌ها تنها با در نظر گرفتن فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی بر مقدار پروتئین نمی‌توان به نتیجه‌ای قطعی رسید و بایستی به عوامل دیگر هم توجه کرد. مقاله حاضر بخشی از پژوهش انجام شده درباره اثر کاربرد برخی کودهای شیمیایی و آلی بر ویژگی های تغذیه‌ای و بیوشیمیایی برگ انگور رقم ’بیدانه قرمز‘ در شرایط تنش خشکی می‌باشد (Safari, 2018). در ادامه به برخی نتایج پژوهش نامبرده برای تفسیر بهتر یافته‌های مقاله حاضر پرداخته می‌شود. نتایج بررسی برخی تغییرات بیوشیمیایی برگ انگور نشان داد که محتوای رطوبت نسبی، غلظت کلروفیل *a* و کارتنوئید برگ بین تیمارهای کودی اختلاف معنی‌داری نداشت. افزایش نسبت کلروفیل *a* به *b* به ترتیب در تیمارهای بایوچار، سولفات پتاسیم و کمپوست در مقایسه با تیمار شاهد تغییر کرد (Safari *et al*., 2021). میزان کلروفیل کل و نسبت کلروفیل *a* به کلروفیل *b* از جمله ویژگی‌های هستند که تحت تأثیر غلظت کلسیم برگ هستند. افزایش غلظت کلسیم در طول دوره رشد گیاه موجب افزایش محتوای کلروفیل و افزایش نسبت کلروفیل *a* به کلروفیل *b* می‌شود. همچنین افزایش غلظت کلسیم سبب حفاظت از کلروفیل *a* و جلوگیری از کاهش نسبت کلروفیل *a* به کلروفیل *b* و مانع رنگ زدایی از کلروفیل *a* در سیستم نوری I می شود (Siosemardeh *et al*., 2003). با کاربرد کودهای مورد مطالعه غلظت کلسیم برگ به طور معنی‌داری (P<0.01) در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت (Safari *et al*., 2020). صفری و همکاران (Safari *et al*., 2021) همچنین گزارش کردند که در شرایط تنش خشکی سرعت فتوسنتز تیمارهای آلی از تیمار سولفات پتاسیم بیشتر بود. سرعت فتوسنتز تیمار بایوچار به طور معنی‌داری از تیمار کمپوست بیشتر بود. همچنین در شرایط تنش خشکی هدایت روزنه‌ای برگ در کلیه تیمارهای کودی (به استثنای تیمار بایوچار) در مقایسه با شرایط بدون تنش خشکی کاهش یافت. از آنجایی که با کاربرد بایوچار در مقایسه با کمپوست و سولفات پتاسیم غلظت فسفر، پتاسیم، منیزیم و مس برگ انگور به طور معنی‌داری

بیشتر بود، نسبت کروفیل *a* به *b* و وزن خشک در شرایط تنش خشکی در مقایسه با شرایط بدون کاربرد کود بهبود یافت (Safari *et al.*, 2021). بنابراین، علاوه بر عوامل گفته شده، ضرورت دارد که به نقش و غلظت عناصر غذایی پر مصرف و کم مصرف با کاربرد تیمارهای کودی در شرایط تنش خشکی هم توجه کرد.



شکل ۳- اثر متقابل تنش خشکی × تیمار کودی بر پروتئین محلول کل برگ انگور رقم 'بیدانه قرمز'

Figure 3- Interaction effect of drought stress ×fertilizer treatments on the total soluble protein in grapevine cv. 'Bidane Ghermez' leaves (DMRT, $p \le 0.05$)

کاربرد عناصر پرمصرف مانند نیتروژن، پتاسیم وکلسیم، سمیّت گونه‌های فعال اکسیژن را بواسطه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز کاهش می‌دهد. این آنزیم ها، گونه‌های فعال اکسیژن را بازیابی می‌کنند و واکنشهای اکسیداسیون نوری را کاهش می‌دهند و در نتیجه موجب حفظ پایداری غشای کلروپلاست می‌شوند (Van den Berg and Zeng, 2006). یون های فلزی مانند آهن، روی، منگنز، گوگرد و کلسیم و منیزیم به عنوان کوفاکتور در ساختمان بسیاری از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نقش دارند و باعث مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی می‌شوند. فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، مالون دی آلدهید، لیپید پراکسیداز، سوپراکسید دسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز در حضور عناصر کم مصرف و برخی عناصر پر مصرف در گیاه افزایش پیدا می‌کنند (Castrillo and Trujillo, 1994). افزایش فعالیت آنزیم‌ها مقاومت گیاهان در شرایط تنش‌های محیطی را افزایش می‌دهد. با کاهش غلظت عناصر غذایی در گیاه فعالیت آنزیم‌هایی همچون سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد (Castrillo and Trujillo, 1994). آهن، منگنز یا مس جزء فلزی آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز را تشکیل می‌دهند. میزان عمده سوپراکسید دسموتاز آهن (FeSOD) در کلروپلاست قرار دارد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز مس- روی (CuZnSOD) برای مقایسه کارایی روی در غلات استفاده شده است. سوپر اکسید دسموتاز منگنز در برخی از گونه‌های گیاهی وجود دارد. گروه «هم» گروه پروستتیک آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز را تشکیل می‌دهد. گروه «هم» یک پورفیرین آهن است. در شرایط کمبود آهن فعالیت کاتالاز و پراکسیداز کاهش می یابد (Khoshgoftarmanesh, 2014). یکی از آنزیم‌های اختصاصی منگنز در کلروپلاست RNA پلیمراز می‌باشد. با وجود نقش منگنز در فعال کردن آنزیم RNA پلیمراز، پروتئین سازی بافتهای دچار کمبود مختل نمی‌شود. مقدار پروتئین در گیاهان دچار کمبود مشابه یا حتی بیشتر از گیاهان با منگنز کافی است. نقش منگنز در سوخت و ساز لیپید پیچیده‌تر است. در گیاهان مبتلا به کمبود منگنز نه تنها مقدار کلروفیل بلکه گلیکولیپیدها و اسیدهای چرب غیر اشباع غشاء تیلاکوئیدی تا ۵۰ درصد کاهش می یابد. به سبب نقش پتاسیم در ساخت پروتئین، در گیاهان مبتلا به کمبود این عنصر، مقدار زیادی اسیدهای آمینه، آمیدها و نیترات انباشته می‌شود. مقدار پتاسیم مورد نیاز برای فعال سازی آنزیم ها بسیار کمتر از ساخت پروتئین هاست (Khoshgoftarmanesh, 2014).

با وجود اینکه غلظت پتاسیم کمپوست بسیار بیشتر از بایوچار بود (جدول ۱)، قابلیت جذب پتاسیم آن کمتر از بایوچار بود. علت آن به برهمکنش سدیم و پتاسیم ارتباط دارد. صفری و همکاران (Safari *et*

al., 2020) گزارش کردند که با کاربرد سولفات پتاسیم و کمپوست در مقایسه با شاهد سدیم قابل جذب خاک به ترتیب ۸/۵۳ و ۶۰/۵۲ درصد افزایش یافت. در حالی که با کاربرد بایوچار سدیم خاک ۳/۷۳ درصد در مقایسه با شاهد کاهش یافت.

نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد کودهای سولفات پتاسیم، کمپوست و بایوچار بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و پراکسیداز و مقدار پروتئین محلول کل برگ انگور 'بیدانه قرمز' در شرایط تنش خشکی اثر معنی‌داری داشت. در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز در تیمارهای آلی کمتر از تیمار شیمیایی به دست آمد. همچنین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمارهای بایوچار و سولفات پتاسیم کمتر از تیمار کمپوست بود. در حالی‌که مقدار پروتئین محلول کل برگ انگور با کاربرد بایوچار بیشتر ازتیمارهای کمپوست و سولفات پتاسیم بود. علت مقدار بیشتر پروتئین محلول کل با کاربرد بایوچار به این دلیل می‌باشد که در مقایسه با کاربرد سولفات پتاسیم و کمپوست، غلظت فسفر، پتاسیم، منیزیم و مس برگ انگور به طور معنی‌داری بیشتر بوده (Safari *et al.*, 2020)، در نتیجه نسبت کروفیل *a* به *b* برگ انگور در شرایط تنش خشکی بیشتر به دست آمد (Safari *et al.*, 2021). تنش خشکی منجر به بسته شدن روزنه‌ها و محدودیت ورود دی اکسید کربن به سلول و به دنبال آن تجمع گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود. بنابراین فتوسنتز، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین و چربی‌های غشایی کاهش می‌یابند (Mohammadi Torkashvand *et al*., 2018). پتاسیم از یک سو در ساخت پروتئین نقش دارد و از سوی دیگر، با تنظیم روابط آبی گیاه در شرایط تنش خشکی، خسارت تنش خشکی را کاهش می‌دهد. به بیان دیگر، با کاربرد بایوچار عوامل غیر روزنه‌ای مرتبط با بسته شدن روزنه‌ها کمتر دچار اختلال می‌شوند. در شرایط تنش خشکی سرعت فتوسنتز تیمار بایوچار به طور معنی‌داری از تیمار کمپوست و سولفات پتاسیم بیشتر بود (Safari *et al.*, 2022). همچنین غلظت بیشتر فسفر برگ انگور در شرایط تنش خشکی سبب می‌شود که گیاه کمتر دچار کمبود فسفر باشد. در شرایط تنش خشکی، بیشترین غلظت مس برگ انگور در تیمار بایوچار دیده شد (Safari *et al.*, 2020). اتم مس در آنزیم سوپراکسید دسموتاز به طور مستقیم در سمیت زدایی سوپراکسید تولید شده در طی فتوسنتز نقش دارد. با افزایش قابلیت جذب منگنز با کاربرد بایوچار، ساختمان غشاء در برابر آسیب گونه‌های اکسیژن فعال بهتر حفظ شده است. به منظور توصیه کودی برای انگور رقم 'بیدانه قرمز' در شرایط تنش خشکی می‌توان چنین جمع‌بندی کرد. بر اساس یافته‌های این پژوهش کاربرد بایوچار در درجه اول توصیه می‌شود. بین کودهای سولفات پتاسیم و کمپوست به دلیل اثرات طولانی مدت کاربرد کودهای آلی بر ویژگی‌های شیمیایی خاک و رهاسازی تدریجی عناصر مورد نیاز گیاه (Safari *et al.*, 2020)، کاربرد کمپوست توصیه می‌شود. در پژوهش نامبرده شده، کاهش قابلیت جذب پتاسیم خاک با کاربرد کمپوست با وجود غلظت زیاد پتاسیم آن، به افزایش سدیم تبادلی خاک ارتباط داه شد. بنابراین، برای کاهش اثرات منفی سدیم بر خاک پس از کاربرد کمپوست می‌توان کمپوست را با بایوچار به صورت تلفیقی به خاک اضافه نمود.

سپاسگزاری

از جناب آقای مهندس ارسلان احمدی برای ارائه مشاوره‌های ارزشمند در زمینه باغبانی صمیمانه سپاسگزاریم.

منابع

1. Abedi, T., & Pakniyat, H. (2010). Antioxidant enzymes changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (Brassica napus L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, *46*(1), 27-34. http://dx.doi.org/10.17221/17267/12009-CJGPB
2. Amini, Z., Hadad, R., & Moradi, F. (2009). The effect of water deficit stress on antioxidant enzymes during generative growth stages in barley (Hordeum vulgare L.). *Isfahan University of Technology-Journal of Crop Production and Processing*, *12*(46), 65-74. (In Persian)
3. Beers, R.F., & Sizer, I.W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biology Chemistry*, *195*(1), 133-140. http://dx.doi.org/110.1016/S0021-9258(1019)50881-X
4. Biederman, L.A., & Harpole, W.S. (2013). Biochar and its effects on plant productivity and nutrient cycling: a meta-analysis. *GCB Bioenergy*, *5*(2), 202-214. http://dx.doi.org/210.1111/gcbb.12037
5. Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K.V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, *91*(2), 179-194. http://dx.doi.org/110.1093/aob/mcf1118
6. Candan, N., & Tarhan, L. (2003). The correlation between antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in Mentha pulegium organs grown in Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cu^{2+}, Zn^{2+} and Mn^{2+} stress conditions. *Plant Science*, *165*(4), 769-776. http://dx.doi.org/710.1016/S0168-9452(1003)00269-00263
7. Castrillo, M., & Trujillo, I. (1994). Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivars of French bean plants under water stress and rewatering. *Photosynthetica*, *30*, 175-181.

8. Conesa, M., De La Rosa, J., Domingo, R., Banon, S., & Pérez-Pastor, A. (2016). Changes induced by water stress on water relations, stomatal behaviour and morphology of table grapes (cv. Crimson Seedless) grown in pots. *Scientia Horticulturae*, *202*, 9-16. http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2016.1002.1002
9. Cramer, G.R., Van Sluyter, S.C., Hopper, D.W., Pascovici, D., Keighley, T., & Haynes, P.A. (2013). Proteomic analysis indicates massive changes in metabolism prior to the inhibition of growth and photosynthesis of grapevine (*Vitis vinifera* L.) in response to water deficit. *BMC Plant Biology*, *13*(1), 1-22. https://doi.org/10.1186/1471-2229-1113-1149
10. Davoudi, M.H., Shahbazi, K., Feizollahzadeh Ardebil, M. & Rezaie, H. (2015). *Methods of organic fertilizers' analysis*. Soil and Water Research Institute, Technical publication No. 531. (In Persian).
11. Gambetta, G.A., Herrera, J.C., Dayer, S., Feng, Q., Hochberg, U., & Castellarin, S.D. (2020). The physiology of drought stress in grapevine: towards an integrative definition of drought tolerance. *Journal of Experimental Botany*, *71*(16), 4658-4676. http://dx.doi.org/4610.1093/jxb/eraa4313
12. Haider, G., Koyro, H.-W., Azam, F., Steffens, D., Müller, C., & Kammann, C. (2015). Biochar but not humic acid product amendment affected maize yields via improving plant-soil moisture relations. *Plant and Soil*, *395*(1), 141-157. http://dx.doi.org/110.1007/s11104-11014-12294-11103
13. Hammerschmidt, R., Nuckles, E. & Kuć, J. (1982). Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to Colletotrichum lagenarium. *Physiological Plant Pathology*, *20*(1), 73-82. http://dx.doi.org/10.1016/0048-4059(1082)90025-X
14. Joseph, S., Graber, E., Chia, C., Munroe, P., Donne, S., Thomas, T., Nielsen, S., Marjo, C., Rutlidge, H., & Pan, G.-X. (2013). Shifting paradigms: development of high-efficiency biochar fertilizers based on nano-structures and soluble components. *Carbon Management*, *4*(3), 323-343. http://dx.doi.org/310.4155/cmt.4113.4123
15. Khoshgoftarmanesh, A.H. (2014). *Principles of Plant Nutrition*, Isfahan University of Technology press.
16. Liu, J., Schulz, H., Brandl, S., Miehtke, H., Huwe, B., & Glaser, B. (2012). Short-term effect of biochar and compost on soil fertility and water status of a Dystric Cambisol in NE Germany under field conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, *175*(5), 698-707. http://dx.doi.org/610.1002/jpln.201100172
17. Malusà, E., Laurenti, E., Ghibaudi, E., & Rolle, L. (2002). *Influence of organic and conventional management on yield and composition of grape cv.'Grignolino'*. XXVI International Horticultural Congress: Viticulture-Living with Limitations 640.
18. Mohammadi Torkashvand, A., Tofighi Alikhani, T., Kaviani, B., & Ghasemnejad, M. (2018). Impact of potassium on the yield of lily (*Lilium longifolium× Asiatic* cv. Termoli) and antioxidant enzymes activity under drought stress. *Journal of Plant Process and Function*, *7*(25), 29-38.
19. Pan, Y., Wu, L.J. & Yu, Z.L. (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (Glycyrrhiza uralensis Fisch). *Plant Growth Regulation*, *49*(2), 157-165. http://dx.doi.org/110.1007/s10725-10006-19101-y
20. Ramzani, P.M.A., Shan, L., Anjum, S., Ronggui, H., Iqbal, M., Virk, Z.A., & Kausar, S. (2017). Improved quinoa growth, physiological response, and seed nutritional quality in three soils having different stresses by the application of acidified biochar and compost. *Plant Physiology and Biochemistry*, *116*, 127-138. http://dx.doi.org/110.1016/j.plaphy.2017.1005.1003
21. Reddy, A.R., Chaitanya, K.V., & Vivekanandan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, *161*(11), 1189-1202. http://dx.doi.org/1110.1016/j.jplph.2004.1101.1013
22. Safari, A. (2018). *Comparison of compost, biochar and potassium application on grapes properties under drought stress*. M.Sc. Razi University.
23. Safari, A., Fatemi, A., Saiedi, M., & Kolahchi, Z. (2020). Effect of fertilizer management systems and water stress conditions on nutritional status of grapes (a greenhouse study). *Journal of Soil Management and Sustainable Production*, *10*(1), 119-136 (In Persian with English abstract).
24. Safari, A., Fatemi, A., Saiedi, M., & Kolahchi, Z. (2022). Effect of drought stress on water use efficiency of grapevines (Vitis vinifera L.) cultivar 'Bidaneh-Ghermez' under different fertilizer treatments. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), 35(4), 836-847.* (In Persian with English abstract).
25. Safari, A., Fatemi, A., Saiedi, M., & Kolahchi, Z. (2021). Some biochemical characteristic changes of grapevine 'Bidane-Ghermez'Influenced by drought stress using organic and inorganic fertilizers. *Journal of Horticultural Science, 35*(2), 267-281. (In Persian with English abstract)
26. Siedi, A., Seifi, E., & Rasoli, V. (2022). Evaluation of some physiological and biochemical characteristics of several promising grapevine cultivars under low irrigation conditions. *Research in Pomology*, *6*(2).
27. Siosemardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K., & Ebrahimzadeh, H. (2003). Stomatal and nonstomatal limitations to photosynthesis and their relationship with drought resistance in wheat cultivars. *Iranian Journal of Agricultural Science*, *34*(4), 93-106. (In Persian)
28. Siosemardeh, A., Gholami, S., Bahramnejad, B., Kanouni, H., & Sadeghi, F. (2014). Effect of drought stress on compatible osmolytes content, enzyme activity and grain yield in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Iranian*

Journal of Crop Sciences, *16*(2), 109-124. (In Persian)

29. Sorori, S., Asgharzade, A., Marjani, A., & Samadi, M. (2022). Evaluation of drought stress tolerance among some of grape cultivars using physiological and biochemical studies. *Journal of Horticultural Science*, *36*(2), 373-388. (In Persian with English abstract)
30. Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., & Loeppert, R.H. (2020). *Methods of soil analysis, part 3: Chemical methods*, John Wiley & Sons.
31. Talaei, A., Ghaderi, N., Ebadi, A., & Lesani, H. (2011). Biochemical responses of grape cvs Sahani and Bidane-Sefid, subjected to progressive drought. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *42*(3), 301-308. (In Persian)
32. Usmani, M.M., Nawaz, F., Majeed, S., Shehzad, M.A., Ahmad, K.S., Akhtar, G., Aqib, M., & Shabbir, R.N. (2020). Sulfate-mediated drought tolerance in maize involves regulation at physiological and biochemical levels. *Scientific Reports*, *10*(1), 1-13. http://dx.doi.org/10.1038/s41598-41020-58169-41592
33. Van den Berg, L. & Zeng, Y. (2006). Response of South African indigenous grass species to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. *South African Journal of Botany*, *72*(2), 284-286. http://dx.doi.org/210.1016/j.sajb.2005.1007.1006
34. Xin, X., Zhang, J., Zhu, A., & Zhang, C. (2016). Effects of long-term (23 years) mineral fertilizer and compost application on physical properties of fluvo-aquic soil in the North China Plain. *Soil and Tillage Research*, *156*, 166-172. http://dx.doi.org/110.1016/j.still.2015.1010.1012